

VARIAÇÃO PONDERAL E DOSAGEM DE TESTOSTERONA, PROGESTERONA E ESTRADIOL DE CAMUNDONGOS SUÍÇOS FÊMEAS OVARIECTOMIZADAS E NÃO OVARIECTOMIZADAS SUPLEMENTADAS COM EXTRATO DE *TRIBULUS TERRESTRIS* L.

Variation of weight and dosage of testosterone, progesterone and estradiol of ovariectomized and not ovariectomized female swiss mice Supplements with extract of Tribulus terrestris L.

Thainá Valente Bertozzo¹

Lucas Roberto Moreira¹

Jonatas Medeiros de Almeida Angelo¹

Marcia Clélia Leite Marcellino¹

¹Universidade do Sagrado
Coração – Bauru/SP

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

RESUMO

Introdução: A infertilidade é definida como incapacidade de gerar filhos e acomete significativa parte da população. Por afetar a qua-

Recebido em: 08/01/2019

Aceito em: 27/08/2019

lidade de vida da paciente, a mesma geralmente busca tratamentos que, em suma, são a base de reposição hormonal, que possui diversos efeitos colaterais, abrindo assim uma porta para o estudo de tratamentos alternativos, como o caso das plantas medicinais. **Objetivo:** Dosar testosterona, progesterona e estradiol em camundongos, assim como sua variação ponderal mediante a suplementação com *Tribulus terrestris* L. **Métodos:** Foram utilizados 28 camundongos suíços fêmeas divididas em 4 grupos, sendo dois controles com e sem suplementação e dois que sofreram o processo de ovariectomia bilateral, com e sem suplementação. O extrato da planta foi administrado por 21 dias por gavagem. Os animais foram pesados semanalmente e após os 21 dias foram eutanasiados, e tiveram o sague coletado para as dosagens hormonais. **Resultados:** Ocorreu queda significativa de testosterona nos grupos suplementados com a planta e nos grupos ovariectomizados em relação ao grupo controle. Em relação ao estradiol, não houve alterações significativas entre os grupos, enquanto a progesterona reduziu significativamente nos grupos castrados com e sem suplementação. Quanto à variação ponderal, ao comparar os grupos ovariectomizados e não ovariectomizados, notou-se aumento significativo do peso. **Conclusão:** A castração promoveu o aumento de peso nos animais. A mesma medida associada à suplementação reduziu a testosterona e a progesterona sérica, e não alterou os níveis de estradiol nos animais.

Palavras-chave: Infertilidade. Hormônios. *Tribulus terrestris* L.

ABSTRACT

Introduction: *Infertility is defined as the inability to generate children, and affects a significant part of the population. Because it affects the quality of life of the patient, they usually seeks treatments that, in short, are based on hormonal replacement, which has several side effects, opening, thus, a door for the study of alternative treatments, such as the case of medicinal plants.* **Objective:** *To measure testosterone, progesterone and estradiol in mice, as well as their weight variation by means of supplementation with *Tribulus terrestris* L.* **Methods:** *Twenty-eight female Swiss mice were divided into four groups, two controls with and without supplementation and two that underwent the process of bilateral ovariectomy, with and without supplementation. The plant extract was administered for 21 days by gavage. The animals were weighed weekly and, after 21 days, were euthanized and the sage was collected for the hormonal*

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

dosages. Results: There was a significant fall in testosterone in the groups supplemented with the plant and in the ovariectomized groups in relation to the control group. There were no significant changes in estradiol between groups, whereas progesterone significantly decreased in the castrated groups with and without supplementation. Regarding the weight variation when comparing the ovariectomized and non-ovariectomized groups, a significant increase in weight was observed. Conclusion: Castration promoted weight gain in animals. The same associated with supplementation reduced testosterone and serum progesterone and did not alter estradiol levels in the animals.

Keywords: *Infertility. Hormones. Tribulus terrestris L.*

INTRODUÇÃO

Denomina-se infertilidade a incapacidade de gerar filhos após um ano de tentativas sem o uso de qualquer método contraceptivo. Podendo dividir-se em primária e secundária, a infertilidade em alguns casos é relacionada ao envelhecimento. (ABDELMASSIH, 2007). É de causa multifatorial, englobando oligomenorréia, amnorreia e anovulação como fator em até 30% dos casos, além de alterações estruturais, distúrbios imunológicos, endometriose, síndrome de ovários policísticos (SOP), obesidade, frequência de relação sexual e tabagismo. (MARTINS *et al.*, 2009). Sedentarismo, poluição e Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST's) também são prejudiciais à fertilidade (REMOALDO *et al.*, 2011).

Com o envelhecimento, tanto o homem quanto a mulher entram na condição de hipogonadismo. Na mulher, o período é bem caracterizado, chamado também de menopausa, na qual ocorre brusca queda das quantidades plasmáticas de hormônios esteroides, como a testosterona e o estrógeno. Com isso, grande parte das mulheres acaba optando por fazer reposição hormonal, uma vez que os sintomas de sua ausência podem afetar significativamente a qualidade de vida da pessoa. O problema é que muitas vezes os efeitos adversos de uma reposição com hormônio sintético são muito mais expressivos do que seus efeitos benéficos, abrindo assim uma porta para que novas alternativas de tratamento sejam exploradas.

Nesse contexto, as plantas medicinais têm se mostrado uma promissora fonte de novos tratamentos. Entretanto, geralmente o conhecimento com relação a cada espécie é escasso ou insuficiente para utilização terapêutica segura. Assim, pelo conhecimento da medici-

na oriental, o *Tribulus terrestris* L. é amplamente utilizado como tratamento em casos de infertilidade e perda da libido, com a promessa de aumentar os níveis séricos de hormônios esteroidais. (BASHIR *et al.*, 2009; ELAHI *et al.*, 2013; GAUTHAMAN *et al.*, 2003).

Com isso, este trabalho objetivou estudar: a dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas com e sem ovariectomia bilateral suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L.; e a análise da variação ponderal nesses animais.

MATERIAL E MÉTODOS

1 - Animais e divisão dos grupos

O estudo utilizou 28 camundongos suíços, fêmeas e adultos, que foram cedidos pelo Biotério da Universidade do Sagrado Coração (USC). Durante todo o período do experimento, os animais foram acondicionados em gaiolas de polietileno, sendo 7 animais por gaiola. Foi ofertada ração comercial para roedores e água *ad libitum*. O ambiente foi mantido em ciclo claro-escuro de 12 horas, com estabilização da temperatura entre 22 e 25°C, limpo e arejado. O espaço do biotério foi utilizado para a realização do experimento.

O projeto foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA da Universidade Sagrado Coração (USC), obtendo o protocolo nº 2224230216.

Os animais foram divididos em 4 grupos de experimento:

- Grupo Controle sem ovariectomia e sem suplementação (n=7): receberam 0,2mL de veículo aquoso sem extrato, por gavagem.
- Grupo controle com ovariectomia e sem suplementação (n=7): receberam 0,2mL de veículo aquoso sem extrato, por gavagem.
- Grupo tratado com *Tribulus terrestris* L. com ovariectomia (n=7): receberam 10mg/kg concentrado em 0,2 mL de veículo aquoso, por gavagem.
- Grupo tratado com *Tribulus terrestris* L. sem ovariectomia (n=7): receberam 10mg/kg concentrado em 0,2 mL de veículo aquoso, por gavagem.

A administração foi via gavagem, por 21 dias. O extrato foi obtido comercialmente na Farmácia Formulare, em Bauru/SP, que emitiu o laudo de controle de qualidade do mesmo.

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. SALUSVITA, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

2 - Ovariectomia bilateral

Com o objetivo de mimetizar a redução hormonal da menopausa e da infertilidade, dois grupos sofreram o processo de ovariectomia bilateral (grupo controle com ovariectomia e sem suplementação e grupo tratado com *Tribulus terrestris* L. com ovariectomia).

Para relaxamento da musculatura e anestesia foram administrados Cloridrato de Xilazina (Anasedan®, 0,2 mL) e Cloridrato de Ketamina (Dopalen®, 0,2 mL), por via intraperitoneal. O processo cirúrgico se deu da seguinte maneira: inicialmente, foi realizada a assepsia com Povodine tópico® na região ventral dos animais, então, os pelos da região foram retirados com lâmina de bisturi. Foi realizada uma incisão de aproximadamente 2 cm na região dorsal paravertebral à direita, e a musculatura foi afastada com ajuda de farabeufs. O peritônio foi aberto na região abaixo da última costela, e a gordura peritoneal foi pinçada. Nela foram localizados o útero e os ovários, que foram seccionados. Terminado o procedimento, o fechamento da musculatura abdominal e da pele se deu por pontos simples com fio de algodão agulhado 3.0.

Após o procedimento cirúrgico, os animais receberam 10 mg/kg do antibiótico enrofloxacino (Flotril® 2,5%, Schering-Plough) via intramuscular e dipirona sódica na dosagem de 0,5 g/mL. Recuperados, após 40 dias foi realizado o esfregaço vaginal a fim de confirmar irregularidades no ciclo estral.

3 - Suplementação com *Tribulus terrestris* L.

Os animais foram suplementados com extrato dos frutos da espécie vegetal *Tribulus terrestris* L. durante 21 dias através de gavagem, em concentração de 10 mg/kg em um volume de 0,2 ml.

4 - Coleta do Sangue para dosagem hormonal

Transcorridos os 21 dias de suplementação, os animais foram eutanasiados com dose letal de Tiopental e Lidocaína (150 mg/kg e 10mg/kg, respectivamente) e o sangue coletado por punção cardíaca; acondicionado em tubos sem anticoagulante, centrifugados por 5 minutos a 3000 giros por minuto e encaminhados ao Laboratório de Análises Clínicas da Fundação Veritas, localizado no campus da Universidade do Sagrado Coração. O método de detecção utilizado

para quantificação de testosterona, estradiol e progesterona foi de Quimioluminescência ABBOT- ARCHITECT C18200SR.

5 - Variação ponderal

Os animais foram pesados uma vez por semana em balança analítica da marca Urano®. Os valores obtidos foram anotados e posteriormente tabulados para análise estatística.

6 - Análise estatística

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada através do Software Graphpad Prism 5, sendo empregado o teste paramétrico *T-Student*, com $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste tópico, os resultados serão expostos e discutidos com embasamento na literatura.

1 - Níveis séricos de testosterona

A figura 1 mostra a média da dosagem sérica do hormônio testosterona nos grupos em estudo. A comparação entre o grupo controle (não castrado e sem suplementação) e os demais grupos de estudo (não castrados com suplementação, castrados sem suplementação e castrados com suplementação, respectivamente) constatou que houve redução significativa ($p < 0,05$) nos níveis séricos de testosterona.

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. SALUSVITA, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

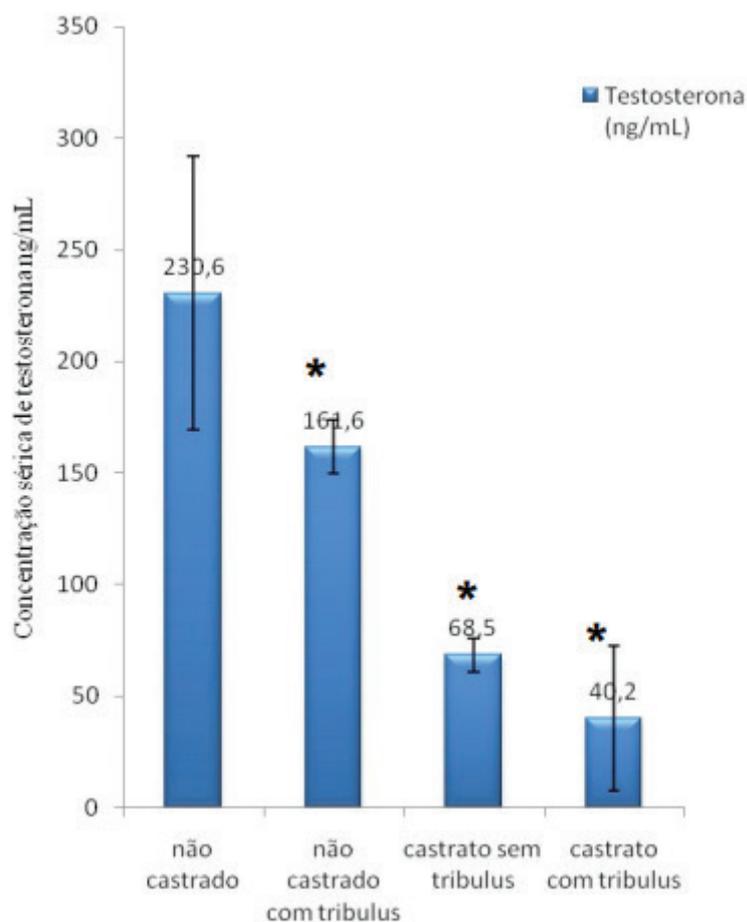


Figura 1 - Comparação das médias dos níveis séricos de testosterona entre os grupos em estudo. Software Graphpad Prism 5; Teste T-Student ($p < 0,05$). * Diferença significativa.

Fonte: Elaborado pela autora.

Os resultados expostos no gráfico sugerem que a castração e a suplementação com o extrato vegetal do *Tribulus terrestris* L. reduziram os níveis de testosterona livre no plasma de camundongos fêmeas. De acordo com Nelson *et al.* (2001), os andrógenos, dentre eles a testosterona, são produzidos a partir do colesterol e sua síntese ocorre nos ovários e periferia da suprarrenal. Diante do exposto, justifica-se a redução significativa de testosterona observada nos grupos submetidos à ovariectomia bilateral (castrados com e sem *Tribulus terrestris* L.) quando comparados aos grupos não castrados, visto que a secção dos ovários anula a produção de testosterona oriunda deste órgão.

Em relação à comparação do grupo não castrado com o grupo não castrado e suplementado com o extrato do *Tribulus terrestris* L., foi

notada redução significativa ($p < 0,05$) nos níveis séricos de testosterona. Da mesma forma, esta redução foi evidenciada entre os grupos castrados, em que os animais castrados e suplementados apresentaram níveis menores de testosterona do que os animais castrados e não suplementados, sugerindo que o extrato de *Tribulus terrestris* L. possa também estar relacionado a esta redução.

Num estudo mencionado por Gauthaman e Ganesan (2008) em ratos castrados tratados com *Tribulus terrestris* L. por via oral, na dose de 5 mg/kg num período de oito semanas, foi evidenciado o aumento dos níveis séricos de testosterona em 51% dos animais, e de dihidrotestosterona o aumento foi de 25%, sendo ambos significativos quando comparados ao grupo castrado e sem suplementação. No presente estudo, a concentração utilizada do extrato de *Tribulus terrestris* L. foi de 10 mg/kg, no entanto, o tempo de administração foi de 21 dias quando comparado ao tempo (8 semanas ou 56 dias) de estudo mencionado pelos autores. O presente resultado não corrobora com este estudo.

Da mesma forma, Shamloul (2010) relata que vários estudos têm demonstrado que componentes químicos presentes no *Tribulus terrestris* L. são capazes de elevar as concentrações de testosterona endógena no sangue. No presente estudo, a concentração de testosterona no sangue de camundongos fêmeas mostrou-se reduzida nos grupos castrados e não castrados suplementados.

Na Bulgária, outro estudo observou a influência da suplementação com *Tribulus terrestris* L. na dosagem de 20 e 10 mg/kg do extrato em homens jovens, com faixa etária entre 20 e 36 anos. A dosagem sérica de testosterona foi realizada 24 horas antes da suplementação e às 24 horas, 72 horas, 240 horas, 408 horas e 576 horas, desde o início da suplementação. Os achados desse estudo mostraram que os esteroides do *Tribulus terrestris* L. não apresentaram propriedades nem direta nem indireta de aumentar os andrógenos na circulação. (NEYCHEV; MITEV, 2005). Esta citação não corrobora com os resultados aqui apresentados, que evidenciou diminuição significativa na concentração de testosterona nos grupos tratados com esta planta, no entanto, está em desacordo com outras citações que relatam aumentam de testosterona, mostrando que ainda não há consenso pleno quanto a este fator.

De acordo com Speroff e Fritz (2005), fatores ou substâncias capazes de elevar a globulina ligadora dos esteroides sexuais (SHBG), que transporta testosterona no sangue, reduzirá a concentração deste hormônio no sangue.

A SHBG é uma glicoproteína produzida no fígado. Sua síntese é regulada por vários fatores fisiológicos e patológicos. Estrógenos

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. SALUSVITA, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

e hormônios da glândula tireoide estimulam sua síntese, enquanto andrógenos, glicocorticoides, hormônio de crescimento e insulina a inibem (NESTLER, POWERS, MAH, 1991). O extrato do *Tribulus terrestris* L. apresenta um componente químico chamado de protodioscina, que é uma saponina de furostanol. Este componente melhora a conversão da testosterona em dihidrotestosterona, que por sua vez estimula a produção da SHBG (ARSUAD, 1996).

Esta citação supostamente justifica os resultados encontrados nos animais suplementados, visto que o aumento de SHBG reduz a concentração livre de testosterona no sangue. No entanto, novos estudos que realizem a dosagem da SHBG se tornam necessários para elucidar esta hipótese.

De acordo com Mazaro e Andersen (2010), a literatura ainda é escassa quanto a publicações que relacionem os efeitos do *Tribulus terrestris* L. nas disfunções sexuais em mulheres. Os dados publicados ainda são conflitantes e contêm falhas de metodologia. Esta citação ressalta a importância da investigação proposta no presente estudo.

Estudos realizados por Gama *et al.* (2014) mostram falta de correlação entre o aumento sérico de DHEA com níveis de testosterona no soro. Contrariamente às expectativas, o estudo evidenciou nível significativamente reduzido de testosterona entre mulheres tratadas com o extrato da planta, apesar de relatarem melhora da função sexual. O mesmo estudo propõe que a DHEA apresente maior impacto em seus receptores em relação à testosterona, justificando a melhora na função sexual sem ocasionar aumento de testosterona no sangue. Novamente a literatura demonstra falta de consenso quanto à variação hormonal de testosterona ou quanto ao suposto mecanismo exercido pelos componentes químicos da planta em mulheres.

Além disso, a literatura postula que a testosterona pode ser convertida em estradiol pela enzima aromatase (SCHULSTER *et al.*, 2016). Esta enzima está presente no tecido adiposo. Os camundongos castrados apresentam ganho ponderal, como mostrado no tópico 4 desta seção, indicando que a enzima pode ter sido também a responsável pelo aumento de conversão da testosterona em estradiol, o que explica a diminuição do primeiro hormônio e o aumento do segundo nos animais castrados.

2 - Níveis séricos de estradiol

A figura 2 mostra o gráfico com a média da dosagem sérica do hormônio estradiol nos grupos em estudo. Não foram evidenciadas

alterações significativas na concentração de estradiol entre os grupos de experimento.

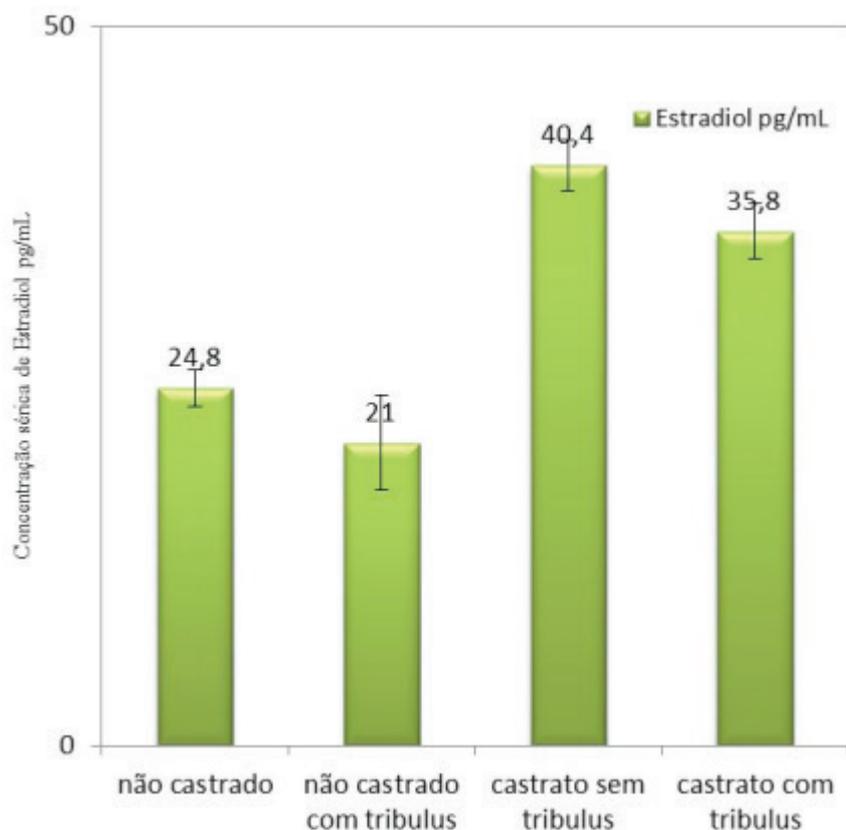


Figura 2 - Comparação das médias dos níveis séricos de estradiol.

Fonte: Elaborado pela autora.

Labrie *et al.* (1998) mencionam que mulheres com menopausa cirúrgica, ou seja,

ocasionada após a remoção dos ovários, apresentam redução abrupta dos níveis séricos de estradiol. Os resultados do presente estudo não corroboram com esta citação, visto que após 40 dias da castração e 21 dias de tratamento não foi evidenciada redução nos níveis de estradiol em comparação ao grupo não castrado.

Segundo Josym (2008), o uso do extrato do *Tribulus terrestris*L. em mulheres aumenta a concentração do hormônio estradiol e ocasiona discreta alteração nos níveis de testosterona, melhorando a função reprodutora, a libido e a ovulação. Nos resultados apresentados no gráfico, não foi evidenciado aumento significativo nos grupos castrados e não castrados que receberam 10 mg/kg do extrato desta

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

planta. Uma suposta justificativa pode estar relacionada ao tempo de administração (21 dias) adotado no presente estudo.

Gama *et al.* (2014) mencionam estudos que sugerem que o componente químico protodioscina, extraído do *Tribulus terrestris*L., apresenta capacidade de ser metabolizado em desidroepiandrosterona (DHEA). Esta conversão supostamente estaria associada ao aumento da libido, evidenciado em mulheres que utilizam este extrato vegetal. A esteroidogênese envolve a participação de inúmeras enzimas na síntese de diferentes hormônios esteroides, onde se encontram os estrógenos. Os principais estrógenos presentes na circulação são estrona, estriol e estradiol, sendo este último o mais potente. (GUYTON; HALL, 1997). Na glândula suprarrenal, a enzima aromatase, também conhecida como *P450 arom*, tem a capacidade de converter o andrógeno DHEA em estradiol (CUNNINGHAM *et al.*, 1997). Novamente os resultados expostos no gráfico não corroboram com estas citações, visto que em 21 dias de tratamento, não houve alterações nos níveis séricos de estradiol.

Para Adaay e Mosa (2012), a administração oral dos extratos aquosos do *Tribulus terrestris*L. aumenta o número de folículos crescentes em ratos, mas não altera significativamente os níveis de hormônio sexual. Esta citação corrobora parcialmente com os resultados do presente estudo, que não evidenciou alterações nos níveis séricos de estradiol, no entanto, constatou aumento significativo do proestro. Estudos que avaliem a histologia ovariana tornam-se necessários para elucidar os resultados aqui apresentados.

De acordo com Cleland (1985) e Bulun (1994), o tecido adiposo possui aromatase P450, que possui função de produzir estrógenos. Esta enzima ainda pode converter testosterona em estradiol. Visto que os camundongos castrados tiveram ganho ponderal significativo - como mostrado no tópico 4 desta seção - pode-se propor que o tecido adiposo foi capaz de aumentar os níveis de aromatase, que pode ter sido responsável pela conversão de testosterona em estradiol, explicando o aumento deste hormônio nos animais castrados.

3 - Níveis séricos de progesterona

A figura 3 mostra o gráfico com a média da dosagem sérica do hormônio progesterona nos grupos em estudo. Na comparação entre o grupo não castrado e o grupo não castrado e suplementado com o extrato da *Tribulus terrestris*L., descobriu-se que não há alteração

significativa nos níveis séricos de progesterona, sugerindo que a planta não interfere na secreção deste hormônio. A comparação feita entre os animais castrados sem suplementação e com suplementação revelou que não houve resultados significativos, sugerindo que a planta não foi capaz de interferir na secreção de progesterona e possivelmente não possui nenhum composto análogo ao hormônio. Porém, ao comparar o grupo não castrado com o grupo castrado sem suplementação, foi evidenciado que a remoção dos ovários reduziu significativamente ($p < 0,05$) os níveis de progesterona, indicando que a castração diminuiu a secreção deste hormônio, da mesma forma que reduziu significativamente no grupo castrado e suplementado em comparação ao grupo controle.

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

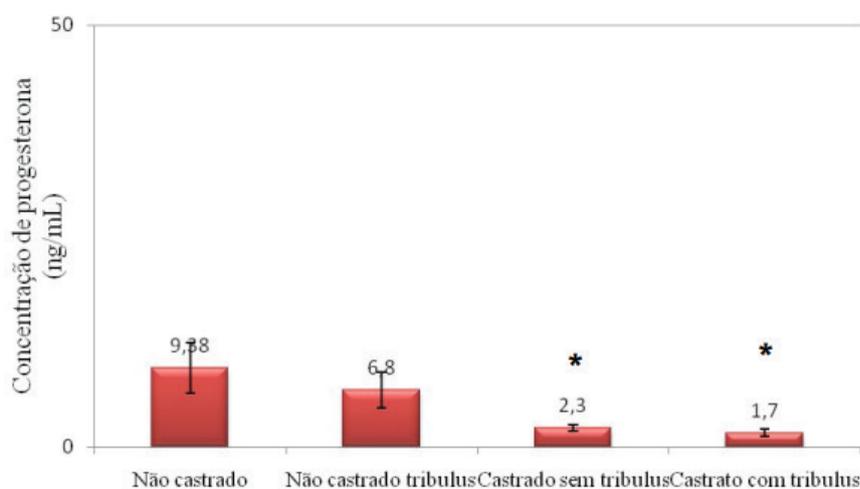


Figura 3 - Comparação das médias dos níveis séricos de progesterona entre os grupos em estudo. Software Graphpad Prism 5; Teste T-Student ($p < 0,05$). * valores significativos em relação ao grupo controle sem castração e sem suplementação.

Fonte: Elaborado pela autora.

Os hormônios ovarianos são secretados em resposta aos dois hormônios do lobo anterior da hipófise: o hormônio folículo estimulante ou FHS e hormônio luteinizante ou LH. O último é responsável pela liberação de progesterona. Na mulher não grávida, a progesterona é secretada em grandes quantidades principalmente pelo ovário. (GUYTON; HALL, 2002). Diante do exposto, no presente estudo a queda dos níveis de progesterona no grupo castrado estaria relacionada à secção dos ovários.

Segundo Freeman (1994), o proestro é fase do ciclo estral em que ocorrem inúmeras e intensas alterações hormonais, dentre as quais se

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

destaca o pico plasmático do hormônio luteinizante (LH). O hormônio LH é responsável pela ovulação e também pela secreção e aumento plasmático de progesterona (GUYTON; HALL, 2002). No presente estudo, num período de 21 dias de administração do extrato aquoso do *Tribulus terrestris*L., houve aumento da ocorrência do proestro, mas não foi suficiente para aumentar os níveis de progesterona em decorrência à secção bilateral dos ovários. Novos estudos que avaliem a concentração do LH tornam-se necessários para elucidar os resultados aqui exposto.

Para Adaay e Mosa (2012), o tratamento oral com extrato aquoso do *Tribulus terrestris*L. é capaz de aumentar o número de folículo ovarianos em desenvolvimento em ratos sem alterar o nível de hormônios sexuais. Esta citação corrobora com os resultados expostos no presente estudo, visto que o tratamento adotado no presente estudo aumentou significativamente a ocorrência do proestro, fase esta do ciclo estral que se associa à ovulação, no entanto, a redução de progesterona também apresentada neste estudo possivelmente está associada à secção dos ovários e não ao efeito dos componentes ativos da planta.

4 - Variação ponderal

A figura 4 representa o gráfico com média da variação ponderal nos grupos em estudo. Na comparação entre o grupo não castrado com o grupo não castrado e suplementado com o extrato do *Tribulus terrestris*L., não foram evidenciadas alterações significativas na variação ponderal, sugerindo que a planta não interfere no peso. A comparação feita entre os animais castrados sem suplementação e com suplementação revelou que também não houve resultados significativos, porém ao comparar o grupo não castrado com o grupo castrado, foi possível notar que a remoção dos ovários aumentou significativamente o peso dos animais.

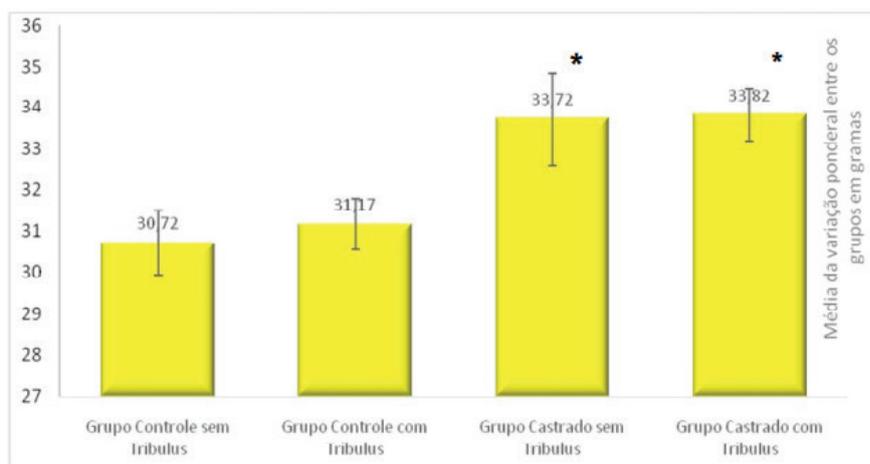


Figura 4 - Comparação das médias da variação ponderal entre os grupos em estudo. Software Graphpad Prism 5; Teste T-Student ($p < 0,05$). * Valores significativos entre os grupos castrados.

Fonte: Elaborado pela autora.

De acordo com Holanda (2010), a castração é o ato de privar os órgãos sexuais da capacidade de reprodução, seja esta por ablação, doença infecciosa ou procedimentos químicos. Tal ato acarreta perda de função ovariana além de privação de hormônios ovarianos. (SPE-ROFF *et. Al.*, 2005; STIFF *et. al.*, 1997).

No presente estudo, foi realizada a castração ou secção dos ovários em dois grupos de experimento: grupo castrado sem e com suplementação do extrato vegetal de *Tribulus terrestris*L. Essa prática pode causar distúrbios como perda da libido, risco de osteoporose e também ganho ponderal (VASCONCELOS, 2004). Em relação a este último aspecto, há muitas descrições na literatura que evidenciaram ganho de peso pós-castração, como Szabo *et. etal.* (2000) em seu experimento com gatas ovariectomizadas e Melton *et al.* (2000) em ratas adultas também castradas. Vasconcelos (2004) também descreveu ganho ponderal em ratas jovens e adultas submetidas a tal procedimento.

Diante do exposto, os dados do presente estudo corroboram com estas citações, visto que os animais castrados apresentaram ganho ponderal significativo em comparação com o grupo não castrado.

Outra hipótese é que a castração simularia o período de menopausa, associado firmemente à deficiência hormonal. Essa deficiência hormonal típica da menopausa está associada a mudanças no peso, como ganho de tecido adiposo e perda de massa magra (KIER-CHENGAST *et al.* 1999).

No presente estudo, foram evidenciadas reduções significativas na concentração sérica de progesterona e testosterona nos animais

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. SALUSVITA, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

castrados, corroborando com a literatura, ou seja, os animais que ganharam peso no presente estudo também apresentaram variações hormonais.

Além disso, o tecido adiposo possui a enzima aromatase P450, que tem como função produzir estrógenos. Obesos têm aumento da transcrição desta enzima nos adipócitos e gordura subcutânea (CLELAND *et al.* 1985, BULUM *et. al.*, 1994). Esta enzima encontra-se no tecido adiposo, sendo um componente da família dos citocromos P450. Durante a aromatização ocorrerá a conversão de androstenediona em estrona e de testosterona em estradiol (DIAS, 2009). No presente estudo, os camundongos castrados apresentaram ganho ponderal. Nesta condição, o aumento do tecido adiposo supostamente pode estar relacionado ao aumento sérico de estradiol, evidenciado neste mesmo grupo, associando esta maior produção ao metabolismo das aromatases existentes no tecido adiposo.

Outra hipótese para o ganho ponderal é o fato de o hormônio leptina estar aumentado em obesos (CONSIDINE *et al.*, 1996). Este hormônio é responsável pela saciedade. Entretanto, os efeitos contrários em pacientes com sobrepeso sugerem que existe um defeito na atividade da leptina em obesos, que supostamente possuem resistência aos efeitos do hormônio (MAFFEI *et al.*, 1995).

Caro (1996) cita que obesos tem uma diminuição de concentração líquórica de leptina, o que dificultaria o transporte do hormônio para dentro do cérebro, impedindo seus efeitos. Isso também explicaria o ganho de peso nos animais.

Em relação à planta *Tribulus terrestris*L., notou-se que no grupo não castrado a planta não foi capaz de interferir na variação ponderal dos animais. Um estudo feito por Rogerson *et al.* (2007), utilizando a planta em jogadores de *rugby* para avaliar força e massa livre de gordura, administrada durante cinco semanas, demonstrou que após o período a planta não foi capaz de alterar força ou massa muscular livre de gordura, uma vez que o grupo suplementado não obteve diferença significativa do grupo placebo. Este autor corrobora com os resultados aqui apresentados.

Outro estudo feito por Antonio *et al.* (2000), utilizando quinze indivíduos, divididos em grupo placebo e grupo *Tribulus terrestris*L. suplementados durante oito semanas, demonstrou que a suplementação não foi capaz de alterar a composição corporal dos indivíduos dos dois grupos, concluindo que a planta não alterou o peso. Os resultados do presente estudo corroboram com esta citação e reforçam a suposição de que o ganho de peso evidenciado nos grupos castrados com e sem suplementação está relacionado à castração e não à suplementação.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, conclui-se que:

- 1 A castração e a suplementação com extrato do *Tribulus terrestris* L. reduziu significativamente os níveis de testosterona livre em comparação ao grupo controle;
- 2 A castração e suplementação com extrato o vegetal não alteraram os níveis séricos de estradiol;
- 3 Os animais castrados sem e com suplementação de *Tribulus terrestris* L. apresentaram redução significativa de progesterona;
- 4 A castração causou aumento de peso nos animais submetidos a este procedimento.

A realização de novos estudos cujo tratamento com extrato da planta seja administrado por mais tempo e que avaliem a concentração sérica de outros mediadores envolvidos na reprodução como os hormônios folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH) tornam-se necessários para elucidar os resultados apresentados neste estudo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, meus pais Lucia e José, minha amiga e irmã Thaís, meu companheiro Victor, e amigos. Agradeço também a Universidade do Sagrado Coração pela estrutura e pelo desenvolvimento do projeto, bem como todos os funcionários que auxiliaram no andamento desta pesquisa: Fabiane, Maira, Alexandre e Lígia. À Márcia Marcellino, orientadora que permitiu que este projeto acontecesse. Aos meus colegas e co-autores Lucas Moreira e Jonatas Angelo.

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

REFERÊNCIAS

ABDELMASSIH, R. **Avanços em Reprodução Humana Assistida**. São Paulo: Atheneu, 2007.

ADAAY, M. H., MOSA, A. R. Evaluation of the effect of aqueous extract of *Tribulus terrestris* on some reproductive parameters in female mice. **J. Mater. Environ. Sci. Iraq**. v.3, n.6, p. 1153–1162, jul. 2012.

ANTONIO, J. *et al.*, The effects of *Tribulus terrestris* on body composition and exercise performance in resistance-trained males. **Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab**, Dallas, v.10, n.2, p. 208-15.2000.

ARSUAD, K. M. Result of Protodioscin (*Tribulus terrestris*) treatment in males diagnosed with infertility and impotence. **Medical Biology Division of Andrology**, University of Sriwijaya, Indonesia, 1996.

BASHIR, A, *et. al.* Efeitos da *Tribulus terrestris* em desenvolvimento testicular de ratos albinos imaturos. **Biomedica**. Lahore, v. 25, p. 63-68, 2009.

BULUN S. E, SIMPSON E. R. Competitive reverse transcription-polymerase chain reaction analysis indicates that levels of aromatase cytochrome P450 transcripts in adipose tissue of buttocks, thighs and abdomen of women increase with advancing age. **J ClinEndocrinolMetab**. Dallas, v. 78 p. 428-32, 1994.

CARO, J. F., *et al.* Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. **Lancet**, Philadelphia, v. 348 p. 159-61, 1996.

CLELAND, W. H. *et. al.* Effects of aging and obesity on aromatase activity of human adipose cells. **J ClinEndocrinolMetab.**, Springfield, v.60, n. 1, p. 174-7, 1985

CONSIDINE, R. V. *et al.* Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. **N Engl J Med**. Philadelphia, v.334, p. 292-5, 1966

CUNNINGHAM, F. G. *et al.* The placental hormones. **Williams obstetrics**. Ed. 20 Stamford: Appleton e Lange; p.125-50, 1997.

DIAS, A. M. A. **Inibidores da Aromatase e Cancro da Mama: Avaliação biológica de novas moléculas esteroides**. 2009. Porto. 72 f. Dissertação (Mestrado em Toxicologia Analítica Clínica e Forense) – Universidade do Porto.

ELAHI, R. K. et al. Estudo sobre os efeitos de várias doses do extrato de *Tribulus terrestris* em morfologia espermática do epidídimo e contar em ratos. **Glob Veterin.**, v.10 p. 13-17, 2013.

FREEMAN, M. E. The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. **In the physiology of reproduction**. Second edicion. New York. E Knobil and J. D. Neill, Raven Press, p. 613-58, 1994.

GAMA, C. R., et al. Clinical Assessment of *Tribulus terrestris* Extract in the Treatment of Female Sexual Dysfunction. **Clin Med Insights Womens Health**. Auckland, v. 22, n.7, p.45-50, 2014.

GAUTHAMAN, K.; GANESAN A. P. The hormonal effects of *Tribulus terrestris* and its role in the managements of male erectile dysfunction-an evaluation using primates, rabbits and rat. **Phytomedicine**. Singapore, v.15 p. 44–54, 2008.

GAUTHAMAN, A. P. Ganesan, and R. N. Prasad “Sexual effects of puncturevine (*Tribulus terrestris*) extract (protodioscin): an evaluation using a rat model. **Journal of Alternative and Complementary Medicine**, Singapore, v. 9, n. 2, p. 257–265, 2003.

GUYTON, A.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

GUYTON, A.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

HOLANDA, A. B. Dicionário Aurélio de Língua Portuguesa. São Paulo: Editora Aurélio Buarque de Holanda, 2010.

JOSYM, M. *Tribulus terrestris*. 14 out. 2008. Disponível em: <http://www.efamilynet.com/artigos/articles.php?article=891>

KIRCHENGAST, S. et al. Postmenopausal weight status, body composition and body fat distribution in relation to parameters of menstrual and reproductive history. **Maturitas**, Limerick, v.33, p.117-126, June 1999

LABRIE, F.; BELANGER, A; LUU-THE, V et al. DHEA and the intracrine formation of androgens and estrogens in peripheral target tissues: Its role during aging. **Steroids**, Quebec, 63:322–328, 1998.

MAFFEI, M. et al. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. **Nat Med**. New York, v.1, p.1155-61, 1995.

MARTINS, M. A. et al. **Clínica Médica**, v. 1, p. 501-506. São Paulo: Manole, 2009.

MAZARO, C. R., et al. Medicinal plants as alternative treatments for female sexual dysfunction: Utopian vision or possible treatment

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. **SALUSVITA**, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

BERTOZZO, Thainá Valente *et al.* Variação ponderal e dosagem de testosterona, progesterona e estradiol de camundongos suíços fêmeas ovariectomizadas e não ovariectomizadas suplementadas com extrato de *Tribulus terrestris* L. *SALUSVITA*, Bauru, v. 38, n. 3, p. 665-683, 2019.

- in climacteric women? **J Sex Med.** São Paulo, v. 3, p. 695-714, 2010.
- NELSON, V. L. *et al.* The biochemical basis for increased testosterone production in theca cells propagated from patients with polycystic ovary syndrome. **J Clin Endocrinol Metab.** Pennsylvania, v. 86, n.5, p. 925-33, 2001.
- NESTLER, J. *et al.* A direct effect of hyperinsulinemia on serum sex hormone-binding globulin levels in obese women with PCO syndrome. **J Clin Endocrinol metab.** Richmond, v. 72, n. 8, p.3-9, 1991
- NEYCHEV, V. K., MITEV, V. I. The aphrodisiac herb *Tribulus terrestris* does not influence the androgen production in young men. **J Ethnopharmacol.** Sofia, v. 101 p. 319-23, 2005
- REMOALDO, P. C. A., Machado H. C. F. A infertilidade no Conselho de Guimarães: contributos para o bem-estar familiar. **Universidade do Minho.** Lisboa, 2004.
- ROGERSON, S. *et al.* The effect of five weeks of *Tribulus terrestris* supplementation on muscle strength and body composition during preseason training in elite rugby league players. **The Journal of Strength & Conditioning Research.** New South Wales, v. 21, n.2, p. 348-353, 2007.
- SCHULSTER, M. *et al.*, The role of estradiol in male reproduction function. **Asian J. Androl.** Shanghai, v. 18, n. 3 p. 435-40, 2016
- SHAMLOUL, R. Natural aphrodisiacs. **J Sex Med.** Kingston, Ontario, Canada, n.7, p.39-49, 2010.
- SPEROFF, L., FRITZ, M. A. **Clinical gynecologic endocrinology and infertility.** v.1. 7 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
- STIFF, P. J., *et al.* High-dose chemotherapy with autologous transplantation for persistent/relapsed ovarian cancer. **J Clin Oncol.** Maywood, Illinois, USA, 1997; v.15, p.1309-17, 1997
- SZABO, J. *et al.* Influence of dietary protein and lipid on weight loss in obese ovariohysterectomized cats. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v.61, p.559-565, May 2000.
- VASCONCELLOS, L. S. *et al.* Influência da ooforectomia na variação ponderal em ratas jovens e adultas. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, Rio de Janeiro, v.48, n.2, p.299-304, abr. 2004.

